عنوان الاطروحة// تشخيص المركبات الفعالة في نبات لسان الحمل الكبير
(*Plantago Major* L.) بتقنيتي الامتصاصية الجزيئية وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
ودراسة فعاليتها المضادة للبكتريا

اسم الطالب/ **/ صدام حسين فاضل المعاضيدي**
القسم/ كيمياء

اسم المشرف/ د.تحسين علي زيدان/د. محمد عفان الحمداني

الخلاصة

يهدف البحث إلى إجراء دراسة شاملة للمحتوى الكيميائي لنبات لسان الحمل الكبير (*Plantago Major*) العراقي وهو أحد أفراد العائلة الحلمية(*Plantoginaceae*) لغرض تشخيص أصناف المركبات الكيميائية الفعالة في النبات.

تضمن البحث تحضير عدد من المستخلصات المائية والكحولية والعضوية (الكلوروفورم) و الكلايكوسيدية، إذ درست هذه المستخلصات من ناحية النسبة المئوية للناتج وقابلية ذوبان هذه المستخلصات في الماء لغرض اختيار المستخلص الأفضل في الفصل والتشخيص.

بينت الفحوصات الكيميائية التي أجريت على المستخلصات النباتية لنبات لسان الحمل الكبير تواجد أصناف مهمة من مركبات (التانينات ، الفلابوتانينات ، الصابونين ، الفلافونويدات ، الستيرويدات ، التربينويدات ، الفينولات ، الراتنجات ، الكاربوهيدرات ، الأحماض الامينية ، القلويدات ، الكلايكوسيدات و الايريدويدات الكلايكوسيدية).

بينت نتائج الدراسة أن أفضل المستخلصات النباتية التي أعطت أعلى نسبة استخلاص هي لمستخلصات نموذج النبات بطبيعته الجافة للاستخلاص بالماء الحار يليه الماء البارد ثم الكحول على التوالي ، في حين كانت النسب المئوية الأوطأ باستخلاص النبات بالكلوروفورم.

أجريت دراسة مستفيضة لفصل وتشخيص أحد مركبات صنف الكلايكوسيدات الايريدويدية وهو مركب الأوكيوبين(Aucubin) من مستخلصات نموذج النبات بطبيعته الجافة في الماء الحار والبارد والكحول باستعمال ثلاث أطوار متحركة (ماء مقطرو محلول Tris HCl pH=7 و محلول Tris HCl pH=8) ، حيث فصل هذا المركب ولأول مرة بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح بالهلام (Gel Filtration Chromatography) بوساطة عمود من هلام السيفادكس ج-٢٥ (Sephadex G-25) باستعمال محلول Tris HCl pH=8 طوراً متحركاً، في حين أن التشخيص تم بتقنيتي كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الـ(TLC) و الامتصاصية الجزيئية(Molecular Absorption).

إن دراسات الفصل بتقنية الترشيح بالهلام والتشخيص بتقنيتي كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الـ(TLC) و المطيافية الجزيئية(Molecular Absorption) لهذا المركب من مستخلص نموذج النبات بطبيعته الجافة في الماء الحار أظهرت إمكانية عزله بصورة نقية حيث كانت نتائج معدل الجريان النسبي ×١٠٠ (R_f×100) مطابقة لما جاء في المصادر، وان امتصاصيات الأجزاء الحاوية على المركب أظهرت قمماً واضحة عند الطول الموجي

للامتصاص الأعظم للأوكيوبين(203nm) حيث تم الحصول على قمة حادة وواضحة عند هذا الطول الموجي للجزء ١١ الذي تم الحصول عليه من فصل محلول المستخلص المحضر من نموذج النبات بطبيعته الجافة في الماء الحار والمفصول على عمود هلام السيفادكس ج-٢٥ (Sephadex G-25) باستخدام محلول Tris HCl pH=8 كطور متحرك، كما أظهرت نتائج فحص الـ(TLC) تأكيداً لتواجد المركب في هذا الجزء.

تم اختبار تأثير المستخلصات المختلفة لنبات لسان الحمل الكبير في نمو عزلتين مشخصتين من البكتريا المرضية السالبة والموجبة لملون كرام (*E.coli,S.viridans*) بطريقة الانتشار بالحفر.

أوضحت الاختبارات التي أجريت خارج الجسم الحي (*in vitro*) لمستخلصات نبات لسان الحمل الكبير أن افضل المستخلصات المستخدمة الذي أعطى أعلى فعالية مضادة لبكتريا سبحيات الخضرة(*S.viridans*) هو مستخلص الكلايكوسيدات الايريدويدية حيث أعطى قطر تثبيط بمقدار ٢٢ملم يليه مستخلص الكلايكوسيدات العام الذي حصل عليه من طريقة الاستخلاص المستمر (Continuous Extraction Soxhlet) بقطر تثبيط ١٠ ملم ثم مستخلص الكلايكوسيدات العام الذي حصل عليه بالطريقة المباشرة بقطر تثبيط ٨ ملم وأخيراً مستخلص نموذج النبات الجاف في الماء والكحول بقطر تثبيط ٧ ملم لكل منهما، في حين ان بقية المستخلصات لم تعط أي تأثير ضد بكتريا سبحيات الخضرة ، أما فيما يخص بكتريا الاشريكية القولونية (*E.coli*) فقد بينت نتائج الدراسة مقاومة عالية لهذه البكتريا لمختلف أنواع المستخلصات باستثناء مستخلص الكلايكوسيدات الايريدويدية حيث أعطى قطر تثبيط بمقدار ٢٠ملم.

في حين أظهرت كلا العزلتين مقاومة لكل الأجزاء التي تم الحصول عليها من جميع أنواع المستخلصات المحضرة و باستعمال كل من الأطوار المتحركة الثلاث (ماء مقطرو محلول Tris HCl pH=7 و محلول Tris HCl pH=8) ،بأستثناء الجزء الحادي عشر الذي حصل عليه من فصل محلول المستخلص المحضر من نموذج النبات الجاف في الماء الساخن مذاباً في الماء باستخدام محلول Tris HCl pH=8 طوراً متحركاً حيث أظهر تثبيطاً ضد بكتريا سبحيات الخضرة بقطر تثبيط مقداره ١٠ ملم.

الاسم //

Saddam Hussein F. Al-Ma'adhedi

العنوان //

Identification of Active Compounds in *Plantago Major* L. By Molecular Absorption and Thin Layer Chromatography, and Study of its Antibacterial Activities.

Summary

The purpose of this study is to assess the phytochemical screening of the herb *Plantago Major* which grows in Iraq to identify the affective chemical compounds in the herb, and to choose the best technique which gives an extract having highest percent and more solubility in water.

Chemical investigation shows that *Plantago Major* L. Contains different active compounds such as tannins, Phlobatannins, Saponins, Flavonoids, Steroids, Terpenoids , Phenols, Resins, Carbohydrates, Amino Acids, Alkaloids, Glycosides and Iridoid Glycosides.

Different extracts of leaves and stems of *Plantago Major* herb were prepared. These extracts include : water(cold and hot) extract , ethanolic extract and chloroform extract for fresh and dried sample of plant for each of these solvents, in addition to other extracts (glycosidic and iridoid glycosidic) .

The percent residue and solubility in water of all of the above extracts have been studied. The dried herb extracted by hot water appear highest percent and more solubility than the dried herb which is extracted by cold water and also more than the dried herb prepared by ethanol. While the lowest percent residue and solubility in water had been found in extraction of the herb using chloroform.

A detailed study was accomplished to separate and identify one of the glycosidic iridoid species (Aucubin) by a novel method. The separation technique includes gel filtration using a column of Sephadex G-25 with a solution of Tris HCl pH=8 as a mobile phase, while the identifications are completed by thin layer chromatography(TLC) and molecular absorption spectrophotometry.

The results of this study showed that the ability of separation of Aucubin using gel filtration (using Sephadex G-25 as a gel with a solution of Tris HCl pH=8 as a mobile phase) from the dried sample of plant prepared using hot water gives Retardation factor ×١٠٠(R_f×100) equal to 38 which is in agreement to that is found in literature, and clear absorption value with a sharp peak at the (λmax) of wavelength equal to 203 nm which is similar to that found in literature.

Antibacterial activity is tested in this study against two pathogenic bacteria (*S.viridans* ,*E.coli*), using the agar-well diffusion method.

In vitro tests showed that the best extract of *Plantago* The *Major* with highest antibacterial activity against *S.viridans* was iridoid glycosidic extract followed by the general glycisidic extract and finally the ethanolic extract in 1% concentrations. While the only extract which showed an inhibition activity against